

УДК 575.22 : 576.34

**ЯДРЫШКОВЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ
В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ МОШКИ
TETISIMULIUM CONDICI**

Э. А. Качворян

Цитогенетическое изучение двух популяций *Tetisimulium condici* (Армянская ССР) выявило в их кариотипах наряду с чертами сходства существенные различия, которые касаются морфологии ядрышкового организатора (ЯО), расстояния между центромерой и ЯО и морфофункционального состояния хромосомы III, скоррелированного с функциональным состоянием ЯО.

Мошки — злостные кровососы, которые приносят огромный вред народному хозяйству страны. Разработка системы этих насекомых затруднена из-за их мелких размеров и слабой видовой дифференцированности. Наличие в соматических клетках личинок мошек гигантских хромосом позволило поставить решение вопросов систематики на новый уровень. Политенные хромосомы — это модель интерфазных хромосом, на которой можно детально изучать морфологию изменений активных районов хромосом, а именно пuffed и ядрышкового организатора (ЯО). Установлено, что у мошек число ядрышкообразующих хромосом и число пuffed — это видовой кариологический признак. Изучение этих структур хромосом может быть использовано для раскрытия начальных механизмов эволюции отдельных групп.

При изучении природных популяций кровососущей мошки *Tetisimulium condici* (Var.) было отмечено, что ее кариотипическая изменчивость основывается не столько на хромосомных перестройках, сколько на вариабельности морфологии ЯО. В предыдущих работах по мошкам эти вопросы освещены крайне слабо (Ралчева, 1977; Щербаков, 1966; Bedo, 1978). *T. condici* — полиморфный вид (Джафаров, 1960; Рубцов, 1956), что и явилось основанием связать различное состояние пuffed и ЯО с начальными эволюционными процессами, происходящими у этого вида.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В данной работе описываются кариотипические особенности популяции, собранной в Иджеванском р-не Армянской ССР.¹ Личинки и куколки этого вида собраны 09.08.1986 в небольшом ручье, протекающем по лесному склону ущелья р. Агстев. Ширина ручья 80—150 см, температура воды 17—19°, течение воды 0.2—0.4 м/сек, дно — мелкие камни и галька. Субстратом для прикрепления личинок являлись растительные остатки и мелкие камни. Высота местности 900 м над ур. м. Вид развивается вместе с *Odagmia caucasica* Rubz.

¹ Материал собран А. Е. Тертеряном.

Т а б л и ц а 1

Морфофункциональное состояние ядрышкового организатора
Tetisimulium condici в двух популяциях из Иджеванского р-на

Место сбора	Число особей (%)			
	с максимально выраженным ядрышком	с ядрышком в форме пuffed	с гетерозиготным ядрышком	с морфологически невыраженным ядрышком
Популяция № 1	91.4	—	8.6	—
Популяция № 2	11.75	66.25	8	14

П р и м е ч а н и е. Тире — отсутствие особей в данной популяции с вышеуказанным состоянием ЯО.

Ручей расположен выше с. Гетаовит, приблизительно в 7 км от биотопа, где развивается популяция, кариологические особенности которой приведены в табл. 1 и кариотип которой принят за стандартный. Для удобства будем обозначать эту популяцию № 1; популяция, которой посвящена статья, — № 2.

Кариологически изучено 53 личинки VI возраста популяции № 2. Использована ацето-орсеиновая методика приготовления цитологических препаратов. Кариологические особенности популяции изучены на политенных хромосомах из клеток слюнных желез и на митотических хромосомах из гонад и ганглиев.

КАРИОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИИ № 2

Диплоидный набор хромосом в метафазных пластинках клеток гонад и нервных ганглиев равен 6 ($2n=6$). Характерной особенностью этой популяции является различная морфологическая выраженность ядрышка (ЯО) и пuffed. ЯО в стандартном кариотипе занимает область 21—22 в длинном плече хромосомы III.

Обнаружены четыре морфологические формы ЯО, которые отражают разную степень функционального состояния хромосомы III в этом локусе. Они проиллюстрированы на рис. 1 и 2 (см. вкл.), где наряду с их схематическими изображениями приводятся и микрофотографии.

В первом случае наблюдается нарушение непрерывности в зоне ЯО вследствие деспирализации хромонем (рис. 1, *a*; 2, *a*). Конъюгация гомологичных хромосом в этом локусе нарушается. Ядрышко морфологически представлено широкой светлоокрашенной зоной сферической формы без видимых хромомер-

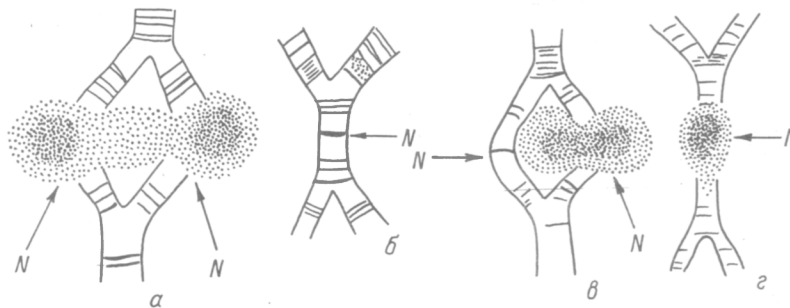


Рис. 1. Схематическое изображение морфофункционального состояния ядрышкового организатора *T. condici*.

a — ядрышко морфологически максимально выраженное; *б* — ядрышко морфологически невыраженное; *в* — ядрышко с гетерозиготной структурой; *г* — ядрышко в форме пuffed; *N* — ядрышко.

Т а б л и ц а 2

Длины хромосом, плеч и положение основных маркеров (в мкм)
Tetisimulium condici в двух популяциях из Иджеванского района

Метрические признаки кариотипа	Популяция № 1	Популяция № 2
Хромосома I, общая длина	405.30±4.6	418.60±5.35
I S	195.6±3.8	206.4±6.8
I L	209.7±5.4	212.2±3.9
Хромосома II, общая длина	301.7±4.2	251.66±4.85
II S	111.1±5.0	98.33±4.6
II L	190.6±3.6	153.33±5.1
Хромосома III, общая длина	284.5±3.9	260.04±3.5
III S	100.6±3.7	94.72±4.3
III L	183.9±5.0	165.32±5.4
Расстояние между центромерой и ядрышком (N—C)	38.61±3.0	50.35±2.7
Ширина срединной части центромеры	6.6±0.04	6.14±0

ных нитей (рис. 2, а). Во втором случае в локусе ядрышкового организатора прослеживается чередование темно- и светлоокрашенных полос (рис. 1, б; 2, б), ядрышко морфологически не выражено. В третьем случае ЯО находится в гетерозиготном состоянии: у одного гомолога отмечается нормально функционирующее ядрышко (рис. 1, в; 2, в₁ в₁₁), в то время как у другого в локусе ЯО четко прослеживается темноокрашенный диск. Но наиболее распространенная в данной популяции такая морфология ЯО, при которой ядрышко имеет вид обычного пуффа, при этом хромосома в данном участке несколько расширяется за счет плотной конъюгации гомологов и его неполной деспирализации (рис. 1, г; 2, г). У мошек подобная морфология отмечается впервые. Состояние ЯО в виде пуффа коррелирует с подавлением функционирования активных участков хромосом I и II и особенно хромосомы III. В этих случаях все другие пуффы и кольца Бальбиани в кариотипе практически перестают работать и исчезают, а дистально-теломерная область IIIS сужается и в ней проявляются тонкие отчетливые прерывистые диски, образованные хромомерами. Те же явления замечаются при морфологической невыраженности ЯО. В остальных случаях при нормальном и гетерозиготном состоянии ЯО теломерный участок IIIS имеет стандартную для кариотипа веерообразную форму.

Описанные формы ЯО встречаются в кариофонде этой популяции с разной частотой. Как видно из табл. 2 оптимальной формой ядрышка в этой популяции является форма пуффа, поскольку 66.25 % особей обладают ею.

Вышеописанные состояния ЯО не связаны с полом насекомого, поскольку они выявлены в равной степени у самцов и самок. В связи с этим необходимо отметить, что показано подавление функции ЯО в V-хромосоме у ряда видов мошек родов *Prosimulium* и *Eusimulium* (Basrur, 1959; Dunbar, 1959). Но у других представителей этих же родов выявлена морфологическая невыраженность ядрышка, присущая обоим полам (Dunbar, 1959; Ottonen, 1966).

СРАВНЕНИЕ КАРИОТИПИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ПОПУЛЯЦИЙ № 1 И № 2

Сравнение дискоидальной структуры одноименных хромосом изученных популяций *T. condici* выявило их идентичность. Однако популяция № 2 отличается от популяции № 1 дистальным участком короткого плеча хромосомы III, который изменяется в зависимости от морфофункционального состояния ЯО.

Таким образом, в пределах популяции № 2 четко прослеживаются этапы развития ЯО — от диска до полной деспирализации. Подобная вариация ЯО в пределах популяции показана у *Simulium ornatipes* (Bedo, 1978).

Сравнение морфофункционального состояния ядрышка в обеих популяциях показало их значительные различия. Из табл. 1 видно, что подавляющее большинство особей популяции № 1 обладает максимальной морфологической выраженностью ЯО. Кроме того, этой популяции присуще сильное развитие пуффов и колец Бальбиани в хромосомах. Таким образом, эту популяцию отличает высокая степень функциональной активности хромосом. В то же время недоразвитие пуффов и ядрышка в кариотипе большинства особей популяции № 2 свидетельствует о невысокой степени функциональной активности хромосом в этой популяции.

В табл. 2 даны результаты статистической обработки длины хромосом, их плеч и основных маркеров обеих популяций. Популяции достоверно не различаются по длинам хромосом и их плеч. В то же время по такому показателю, как расстояние между центромерой и ядрышком, популяции различаются с высокой степенью достоверности, которая была определена по критерию Стьюдента. Это расстояние (С—N) в популяции № 1 равно 38.61 мкм, а в популяции № 2 — 50.35 мкм.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследование показало тесную связь между морфологической структурой ЯО, наличием пуффов в хромосомах I и II и строением дистальной области хромосомы III, которая отражает функциональную взаимозависимость. Эти данные показывают, что ЯО, кроме своей основной функции, обладает и регуляторной. Причем область его влияния довольно значительна, поскольку наблюдалась зависимость степени развития пуффов в хромосомах от морфофункционального состояния ядрышка. Но наиболее сильно действие ЯО на хромосому III, у которой в зависимости от состояния ядрышка менялась структура дистальной области.

Таким образом, популяции № 1 и № 2 различаются функциональной активностью хромосом, которая регулируется ядрышковым организатором. Это позволяет предположить, что характер функционирования ЯО имеет формообразующее значение. Различия между популяциями значительны. Если в популяции № 2 обнаруживаются все переходные формы морфофункционального состояния ядрышка (от диска до полной деспирализации), то в популяции № 1 есть только две формы ядрышка, причем характерным является его активное состояние. Вышеуказанные различия между популяциями свидетельствуют о процессе дивергенции, уже начавшейся здесь. В пользу этого предположения говорит стойкое различие длины расстояния между центромерой и ядрышком, а также различия в занимаемых экологических нишах. Водоемы, в которых выплывают особи популяций № 1 и № 2, различаются по своим гидрологическим показателям. Популяция № 1 развивается в более широком и полноводном водоеме с быстрым течением (скорость течения 0.6—0.8 м/сек) и температурой воды 21—23°. Водоем, в котором развивается популяция № 2, значительно мельче, отличается более медленным течением, холодной водой и т. д. (см. Материал и методика). Таким образом, генетическое разнообразие у этого вида сопровождается экологическим.

Влияние генов-регуляторов, локализованных в ЯО, на микрохромосому и X-хромосому было обнаружено у некоторых дрозофил (Vicudo e. a., 1977). На основании полученных данных, авторы делают предположение, что характер функционирования ядрышкового организатора тесно связан с межвидовыми различиями.

Различия в числе и распределении локусов ЯО показаны у разных видов крыс и европейских ежей (Mandahl, 1979, Yosida, 1978). Высказано предположение, что различия в расположении ЯО отражают видовую дифференциацию в роде *Rattus*.

В изученных популяциях *T. condici* генетическая дивергенция идет не путем образования структурных перестроек хромосом, а путем изменения характера функционирования ЯО, обладающего регуляторной функцией. Поэтому правомерно предполагать, что изменения характера регуляции генов являются движущим механизмом микроэволюции в этой группе.

В эволюционном отношении подобные изменения являются более прогрессивными. Хромосомные перестройки сильно нарушают генетический баланс клетки, а изменения механизмов генной регуляции являются более выгодными для вида, поскольку ускоряют темпы адаптации организмов к быстро изменяющимся условиям среды.

Таким образом, ядрышковый полиморфизм представляет серьезный фактор дифференциации популяций в конкретных экологических нишах и может являться одним из путей эволюции у мошек.

По мнению Майра (1974), развитие новых методов, позволяющих (по крайней мере в первом приближении) различать структурные и «прочие» (в основном, регуляторные) гены, представляет собой достижение эволюционной биологии, имеющее первостепенное значение.

Данная работа является попыткой приблизиться к изучению формообразующих явлений с этих позиций.²

Л и т е р а т у р а

- Д ж а ф а р о в Ш. М. Мошки (сем. Simuliidae) Баку, Изд-во АН АзССР, 1960. 155 с. Фауна Азербайджана. Двукрылые насекомые.
- М а й р Э. Популяции, виды и эволюция. М.: Мир, 1974. 460 с.
- Р а л ч е в а Н. М. Гетерозиготность по пuffed и ядрышковый полиморфизм в природных популяциях Simuliidae // Докл. Болг. АН. 1977. Т. 30, № 8. С. 1217—1220.
- Р у б ц о в И. А. Мошки (сем. Simuliidae). М.; Л., 1956. 860 с. (Фауна СССР. Насекомые двукрылые. Т. 6. Вып. 6).
- Щ е р б а к о в Е. С. О ядрышковом полиморфизме в природной популяции мошки *Odagmia ornata* // Цитология. 1966. Т. 8, № 4. С. 510—513.
- В е d o D. G. Band and nucleolar polymorphism in polytene chromosomes of *Simulium ornatum* (Diptera, Simuliidae) // Cytobios. 1978. Vol. 21. N 82. P. 113—133.
- В а s r u r P. K. The salivary gland chromosomes of seven segregates of *Prosimulium* (Diptera, Simuliidae) with a transformed centromere // Can. J. Zool. 1959. Vol. 37. P. 527—570.
- В и c u d o H. E., R i c h a r d s o n M. C., R i c h a r d s o n R. H. Gene regulation in *Drosophila mulleri*, *D. arizonensis* and their hybrids. 1. The nucleolar organizer. // Proc. Nat. Acad. Sci. (USA). 1977. Vol. 74. P. 3498—3502.
- Д у n b a r R. W. The salivary gland chromosomes of seven forms of blackflies included in *Eusimulium aureum* Fries. // Can. J. Zool. 1959. Vol. 37. P. 496—526.
- М а n d a h l N. Localization of nucleolar organizing regions in European hedgehogs (Insectivora, Mammalia). // Ibid, 1979. Vol. 91, N 2. P. 149—161.
- О t t o n e n P. O. The salivary gland chromosomes of six species in the IIIS-1 group of *Prosimulium* Roub. (Diptera, Simuliidae). // Can. J. Zool. 1966. Vol. 44. P. 677—701.
- У o s i d a T. H. Difference of nucleolar organiser regions in the black and Norway rats. // Annu. Rept. Nat. Inst. Genet. Jap. 1977 (1978), N 28. P. 67—68.

Институт зоологии АН АрмССР,
Ереван

Поступила 28.10.1987

² Выражаю глубокую благодарность с. н. с. Зоологического института АН СССР Нинель Алексеевне Петровой за ценные советы и замечания в проводимых автором кариологических работах.

NUCLEOLUS POLYMORPHISM IN NATURAL POPULATIONS OF *TETISIMULIUM CONDICI*

E. A. Kachvorian

S U M M A R Y

Cytogenetic study of the blackfly *Tetisimulium condici* (Bar.) from two populations of the Idzhevan Region (Armenia) has revealed both similar characters and significant differences in their karyotypes. The populations differ distinctly in the morphology of nucleolus organizer, distance between centromere and nucleolus organizer and morpho-functional state of chromosome III which is correlated with functional state of the nucleolus. These phenomena are first described on the flies. The divergence of *T. condici* is supposed to proceed by way of changing the character of functioning of nucleolus organizer which performs a regulatory function.



Рис. 2. Морфофункциональное состояние ядрышкового организатора *T. condici*.

a — ядрышко морфологически максимально выраженное; *б* — ядрышко морфологически невыраженное; *вI*, *вII* — ядрышко с гетерозиготной структурой; *г* — ядрышко в форме пuffed; *е* — структура дистальной области IIIIS, имеющая место при максимальной морфологической выраженности ядрышка; *дI* и *дII* — структура дистальной области IIIIS, имеющая место при наличии ядрышка в форме пuffed. Об. 90 \times , ок. 10 \times .
Остальные обозначения такие же, как на рис. 1.